

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-346668

(43)Date of publication of application : 21.12.1999

(51)Int.Cl. A23J 1/00  
A23L 2/66  
A23L 2/62  
A23L 2/38  
B01F 17/00

(21)Application number : 10-155787

(71)Applicant : FUJI OIL CO LTD

(22)Date of filing : 04.06.1998

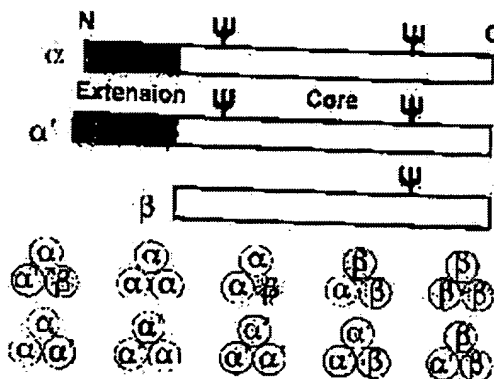
(72)Inventor : MARUYAMA NOBUYUKI  
UCHIUMI SHIGERU

(54) SOYBEAN PROTEIN AND EMULSIFYING AGENT CONTAINING THE SAME AS ACTIVE INGREDIENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a soybean protein and an emulsifying agent having widely improved solubility and emulsifying property under a neutral and an acidic condition.

SOLUTION: This soybean protein contains a soybean protein containing  $\geq 50\%$   $\alpha$  subunit as a subunit composition of  $\beta$ -conglycinin of the soybean protein, and the emulsifying agent is obtained by containing the soybean protein comprising  $\geq 50\%$   $\alpha$  subunit as the subunit composition of  $\beta$ -conglycinin of the soybean protein as an active ingredient.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

19.02.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3430922  
[Date of registration] 23.05.2003  
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]  
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]  
[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-346668

(43)公開日 平成11年(1999)12月21日

(51)Int.Cl. <sup>4</sup>	識別記号	F I	
A 2 3 J	1/00	A 2 3 J	1/00 Z
A 2 3 L	2/66	A 2 3 L	2/38 J
	2/62	B 0 1 F	17/00
	2/38	A 2 3 L	2/00 J
B 0 1 F	17/00		L
審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 6 頁)			

(21)出願番号 特願平10-155787

(22)出願日 平成10年(1998)6月4日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成10年4月2日  
開催の「日本農芸化学会1998年度大会」において文書をもって発表

(71)出願人 000236768

不二製油株式会社

大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号

(72)発明者 丸山 伸之

京都府宇治市五ヶ庄平野9-1 宇治苑  
302号

(72)発明者 内海 成

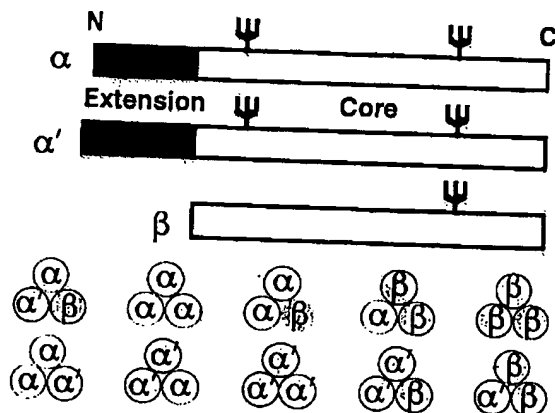
京都府京都市左京区岡崎天王町47-1

(54)【発明の名称】 大豆蛋白質及びこれを有効成分とする乳化剤

(57)【要約】

【課題】 本発明では、中性及び酸性下での溶解性、乳化性が大きく改善された大豆蛋白質及び乳化剤を目的とした。

【解決手段】大豆蛋白質β-コングリシニンのサブユニット組成として、αサブユニットを50%以上含む大豆蛋白質、及び大豆蛋白質β-コングリシニンのサブユニット組成として、αサブユニットを50%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを50%以上含む大豆蛋白質。

【請求項2】大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを70%以上含む大豆蛋白質。

【請求項3】大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを90%以上含む大豆蛋白質。

【請求項4】糖鎖を有しない $\alpha$ サブユニットを含む請求項1～3の大豆蛋白質。

【請求項5】 $\beta$ サブユニットを含まない請求項1～4の大豆蛋白質。

【請求項6】大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを50%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤。

【請求項7】大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを70%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤。

【請求項8】大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを90%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤。

【請求項9】糖鎖を有しない $\alpha$ サブユニットを含む大豆蛋白質を有効成分とする請求項6～8の乳化剤。

【請求項10】 $\beta$ サブユニットを含まない大豆蛋白質を有効成分とする請求項6～9の乳化剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、中性及び酸性下での溶解性、乳化性において従来知られている分離大豆蛋白質やその分画物であるグリシニン、 $\beta$ -コングリシニンでは得られない優位性を有する大豆蛋白質及びこれを有効成分とする乳化剤を提供するものである。

## 【0002】

【従来の技術】大豆蛋白質は、11Sグロブリンであるグリシニンと7Sグロブリンである $\beta$ -コングリシニンを主要成分として含んでいる。グリシニンの構造と加工特性の関係に関しては、本発明者等によりかなり詳しく解析されているが、 $\beta$ -コングリシニンに関しては、ほとんど解析されていない。このグリシニンと $\beta$ -コングリシニンはTHANH & SHIBASAKIの方法により、分画できることが知られている。グリシニンは酸性サブユニットと塩基性サブユニットからなる。このグリシニンに関する発明は、例えば、特開昭63-36748号公報には、大豆グリシニンよりサブユニットを分離して調製する方法が、特開平09-23821号公報には、大豆11Sグロブリン塩基性サブユニットの分離方法が、特開平09-23837号公報には、11Sグロブリン塩基性サブユニットを高濃度で含有する乳化剤及び水中油型乳化組成

物が、特開平09-25296号公報には、大豆11Sグロブリン塩基性サブユニットの分離方法が、それぞれ開示されている。

【0003】 $\beta$ -コングリシニンは $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ の3つのサブユニットに分かれていることが、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動により確認されている。しかし、 $\beta$ -コングリシニンの各サブユニットを純度高く精製し、その性質を利用した知見はまだ無く、 $\beta$ -コングリシニンの $\alpha$ サブユニット組成が多い大豆蛋白質の発明は知られていない。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】大豆種子中には、これらのサブユニット（グリシニンや $\beta$ -コングリシニンを構成する各々のサブユニット）がほぼランダムに組み合わさった分子種が存在するために、均一分子種を大豆から調製することは極めて困難である。本発明では、 $\beta$ -コングリシニンの $\alpha$ サブユニットを、大腸菌等を用いて遺伝子工学的に多量に発現させ、その含量と性質の関係を調べ、中性及び酸性下での溶解性、乳化性が大きく改善された大豆蛋白質及び乳化剤を目的とした。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、 $\beta$ -コングリシニンの構造と加工特性の関係を解析し、目的の大豆蛋白質を調製することとした。 $\beta$ -コングリシニンは、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ の3種類のサブユニットより構成されている。この3種類のサブユニット間で $\beta$ サブユニットは、保存性の高いコア領域のみから構成されているが、 $\alpha$ と $\alpha'$ サブユニットには、親水性のアミノ酸に富むエクステンション領域がN末端側に存在している知見を得ている（図1参照）。また、各サブユニットには糖鎖が付加されている知見を得ている。

【0006】そこで、本発明者等は、大腸菌発現系を用いて、これら各サブユニットの均一分子種を調製することにした。大腸菌発現系では、糖鎖の付加が起らないので、糖鎖を持つ天然のものと比較することにより、糖鎖の影響も解析することができた。更に、より詳細に解析するために、 $\alpha$ と $\alpha'$ サブユニットに関しては、エクステンション領域を除いたコア領域のみも発現させることが出来た。かかる $\alpha$ サブユニットを高含量で含む蛋白画分が、溶解性、乳化性において、 $\beta$ -コングリシニン全体に比較して、中性及び酸性下での溶解性、乳化性が大きく改善される知見を得て本発明を完成するに至った。

【0007】即ち、本発明は、大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを50%以上含む大豆蛋白質である。好ましくは、大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを70%以上、より好ましくは90%以上含む大豆蛋白質が適当である。天然の $\alpha$ サブユニットは糖鎖を含むが、本発明の大豆蛋白質は糖鎖を有しない $\alpha$ サブユニットも含むことが好ましい。天然の $\beta$ -コングリ

シニン $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ の各サブユニットをランダムに含むが、本発明の大豆蛋白質は $\beta$ サブユニットを含まないことが出来る。又、本発明は、大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを50%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤である。好ましくは $\alpha$ サブユニットを70%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤が適当である。より好ましくは、 $\alpha$ サブユニットを90%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤が適当である。糖鎖を有しない $\alpha$ サブユニットを含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤とすることが出来る。 $\beta$ サブユニットを含まない大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤が好ましい。

【0008】

【発明の実施の形態】本発明の大豆蛋白質は7S大豆蛋白質である $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ のサブユニットのうち、 $\alpha$ サブユニットを50%以上含むことが重要である。好ましくは70%以上、より好ましくは90%以上含むことが適当である。 $\beta$ サブユニットの組成割合が小さく、 $\alpha$ サブユニットの組成割合が大きいほど中性及び酸性下での溶解性や乳化性に優れた大豆蛋白質とすることが出来る。 $\alpha$ サブユニットは天然の $\beta$ コングリシニンに由来する糖鎖を有する $\alpha$ サブユニットでも遺伝子工学的に調製された糖鎖を有しない $\alpha$ サブユニット（例えば大腸菌発現系）或いは糖鎖を有する $\alpha$ サブユニット（例えば酵母発現系）でも良い。遺伝子工学的に調製された本発明の大豆蛋白質を構成する分子種は、 $\alpha$ サブユニットだけから形成された三量体でも、 $\alpha$ 、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ サブユニットから形成された三量体でも、 $\alpha$ 、 $\alpha$ 、 $\beta$ サブユニットから形成された三量体でもよいが、好ましくは $\beta$ サブユニットを含まない $\alpha$ 、 $\alpha'$ サブユニットだけから形成された三量体が好適である。

【0009】 $\alpha$ サブユニットが少ないと中性や酸性下での溶解性や乳化性が天然の $\beta$ -コングリシニンと差異が少ない。 $\alpha$ サブユニットの割合が多くなるほど中性及び酸性下での溶解性や乳化性が改善された大豆蛋白質とすることができる。通常、大豆蛋白質は主に7S大豆蛋白質と11S大豆蛋白質から構成されるが、本発明の大豆蛋白質は、7S大豆蛋白質である $\beta$ -コングリシニンを構成するサブユニットである $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ の3種類の一つである $\alpha$ サブユニットが50%以上であることが特徴である。従来知られている7S蛋白質は $\alpha$ サブユニットの割合は約37%程度である。11S蛋白質、7S蛋白質等からなる通常の高純度大豆蛋白質では $\alpha$ サブユニットの割合はもっと少なくなる。

【0010】本発明の大豆蛋白質は従来の分画法で得ることは極めて困難である。本発明の大豆蛋白質は遺伝子工学的手法を用いて得ることが適当である。又、該遺伝子工学的手法を用いて得た大豆蛋白質と天然の $\beta$ -コングリシニンを組み合わせて調製することも出来る。又、

本発明は、大豆蛋白質 $\beta$ -コングリシニンのサブユニット組成として、 $\alpha$ サブユニットを50%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤である。好ましくは $\alpha$ サブユニットを70%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤が適当である。より好ましくは、 $\alpha$ サブユニットを90%以上含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤が適当である。前記同様 $\alpha$ サブユニットの割合が大きいほど乳化性に優れた乳化剤とすることが出来る。糖鎖を有しない $\alpha$ サブユニットを含む大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤とすることも出来、 $\beta$ サブユニットを含まない大豆蛋白質を有効成分とする乳化剤が乳化性に優れ好ましい。又、本発明の大豆蛋白質や乳化剤は、遺伝子工学的に $\alpha$ サブユニット、 $\alpha'$ サブユニットを組み合わせて三量体となし、該三量体単独或いは天然の $\beta$ -コングリシニンと組み合わせたり、天然の分離大豆蛋白質と組み合わせで調製することが出来る。三量体は $\alpha$ サブユニット及び $\alpha'$ サブユニットの組合わせによる $\alpha$ 、 $\alpha$ 、 $\alpha$ や $\alpha$ 、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ や $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\alpha'$ 等を例示出来る。又、 $\alpha$ サブユニットと $\beta$ サブユニットの組合せでも $\alpha$ サブユニットの割合の大きい $\alpha$ 、 $\alpha$ 、 $\beta$ の各サブユニットの組合せは $\alpha$ サブユニットの割合が天然の $\beta$ -コングリシニンより多いので目的の大豆蛋白質或いは乳化剤とすることが出来る。以下実施例により本発明の実施態様を具体的に説明する。

【0011】

【実施例】以下、実施例により本発明の実施態様を説明する。

実施例1

大腸菌発現ベクターpET21dを用いて、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ 、 $\alpha$ のコア及び $\alpha'$ のコアに対する発現プラスミドを構築し、大腸菌BL21(DE3)中で発現させた。図2に、その大腸菌全菌体蛋白をSDS-PAGEにかけた結果を示す。

【0012】Cは、pET24dをトランスフォームした場合で、これと比較することによって明らかなように、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ 、 $\alpha$ のコア、 $\alpha'$ のコアを全菌体蛋白の10-30%のレベルで発現させることができた。また、いずれも可溶性の状態が発現していた。次に、各発現蛋白を硫酸分画、Q-セファロース及びモノQカラムクロマトグラフィーにより、ほぼ均一に精製することができた。一方、天然の大豆から調製した $\beta$ -コングリシニンには $\alpha'$ 、 $\alpha$ 、 $\beta$ が1.3:2:2に含まれていることがわかった。これらの精製標品を用いて、発現蛋白の構造形成能の解析を行った。

【0013】まず、2次構造を比較するために、CDスペクトルを測定した。 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ は、互いに特徴的なスペクトルを示した。これらのスペクトルから、天然の $\beta$ -コングリシニンの各サブユニットの構成比から計算したスペクトルは、天然の $\beta$ -コングリシニンのスペクトルと非常に近似していた。したがって、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$

の各発現蛋白は本来の2次構造を形成していると考えられた。一方、 $\alpha$ のコア及び $\alpha'$ のコアは、少し違いがあるが、 $\beta$ のスペクトルと類似したスペクトルを与えた。また、 $\alpha$ と $\alpha'$ のコアの差スペクトル、及び $\alpha'$ と $\alpha'$ のコアの差スペクトル、つまり $\alpha$ と $\alpha'$ のエクステンション領域に由来するスペクトルは非常に類似していた。すなわち、各サブユニットのコア領域及びエクステンション領域は互いに類似した2次構造を形成していることが示唆された。

【0014】次に、各発現蛋白の分子集合能を解析するために、イオン強度0.5においてショ糖密度勾配遠心分離を行った。 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ 及び $\alpha$ は、天然の $\beta$ -コングリシニンと同様に3量体を形成していることが判明した。ゲル口過によってさらに詳細に解析した。このゲル口過も、密度勾配遠心分離と同様に、イオン強度0.5の条件で行った。密度勾配遠心分離で6量体を形成していると判定された $\alpha'$ のコアは83.6分の位置に溶出した。そして、3量体を形成していると判定された $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ 、 $\alpha$ のコアのうち、 $\beta$ と $\alpha$ のコアは $\alpha'$ のコアよりも遅く、92分から96分の位置に溶出した。また、 $\alpha'$ のコアもイオン強度1.0においては、94.9分の位置に溶出したので、 $\alpha'$ のコアも天然の $\beta$ -コングリシニンと同様に3量体を形成しうることが解った。一方、 $\alpha$ と $\alpha'$ は3量体を形成しているにも関わらず、6量体の $\alpha'$ のコアよりも早く溶出していた。したがって、 $\alpha$ と $\alpha'$ が持つエクステンション領域は、分子の表面に突出しており、その結果、ディメンジョンに大きく寄与していると考えられた。

【0015】以上のCD、密度勾配遠心分離及びゲル口過の結果は、大腸菌での発現蛋白が天然の $\beta$ -コングリシニンと同様の高次構造を形成できることを意味している。したがって、これらの発現蛋白を $\beta$ -コングリシニンの構造と機能特性の相関の解析に用いることができる。

【0016】そこでまず、ANS (1-anilinonaphthalene-8-sulfonate) を用いて表面疎水性を調べてみた。その結果、 $\beta$ 、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ の順に表面疎水性が強くなっていることが解った。これらの各サブユニットのスペクトルとの存在比から計算したスペクトルは天然のものと近いものとなった。このことは、各サブユニットが本来の構造を形成している、ということを支持する。また、 $\alpha'$ のコアは $\alpha'$ と、 $\alpha$ のコアは $\alpha$ と近い値を与えた。したがって、各サブユニットの表面疎水性は、主にコア領域に基づいていると考えた。次に、DSC測定により、変性温度を調べた。 $\alpha$ は78.6℃、 $\alpha'$ は82.7℃、 $\beta$ は90.8℃であり、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ の順に変性温度がより高くなることが解った。そして、 $\alpha$ のコアは77.3℃、 $\alpha'$ のコアは83.3℃で、 $\alpha$ のコアは $\alpha$ と、 $\alpha'$ のコアは $\alpha'$ とほぼ同じ値を与えた。つまり、各サブユニットの熱安定性はコア領域が決定していると言える。一方、天然の $\beta$ -コン

グリシニンは、79.0℃と83.1℃との2ピークを与えたが、これらの値は $\alpha$ と $\alpha'$ の変性温度に相当していた。したがって、糖鎖は熱安定性に影響しないこと、そして、ヘテロ3量体の熱安定性は、変性温度の低いサブユニットに支配される、と考えられた。

【0017】以上の結果をまとめると、 $\alpha$ や $\alpha'$ の、酸性アミノ酸を多く含んでいるエクステンション領域は分子の表面から突出したような構造をとっており、そのため、 $\alpha$ や $\alpha'$ の3量体は、ディメンジョンが大きくなると考えられた。また、表面疎水性や熱安定性などの構造的特徴は、各サブユニットのコアの領域によって決定されており、それは、サブユニットによって異なっていることが明らかとなった。

#### 【0018】実施例2

大腸菌発現系をもちいてダイズ $\beta$ -コングリシニンの $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ の3種類のサブユニットは表面疎水性や熱安定性などの構造的特徴が異なっていること、そして、それは主にコア領域の違いに基づいていることを明らかにした。また、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ サブユニットには $\beta$ サブユニットには存在しない親水性のエクステンション領域が存在していた。このような構造的特徴の違いから、構造を反映する機能特性も各サブユニットで互いに異なっていることが予想された。そこで、 $\beta$ -コングリシニンの構造・機能特性相関をサブユニットレベルで明らかにすることを目的として、組み換え型 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ サブユニット及び $\alpha$ のコア領域、 $\alpha'$ のコア領域の機能特性を調べた。

【0019】まず、溶解性について調べた。天然の $\beta$ -コングリシニンは塩可溶性であるグロブリンであるので低イオン強度では沈澱し易いが、高イオン強度では溶解性が高くなることが知られている。そこで、高イオン強度と低イオン強度の条件で溶解性を調べた。まず、高イオン強度では、天然の $\beta$ -コングリシニンと同様にすべての発現蛋白で、どのpHにおいても可溶性を示した。次に低イオン強度下では、天然の $\beta$ -コングリシニンはpH 4.0から6の範囲のみ不溶性で、非常にシャープなパターンを示す。 $\alpha$ 、 $\alpha'$ もpH 4.0から6の範囲のみ不溶性であったが、天然の $\beta$ -コングリシニンと比較すると完全に不溶性となるpHの範囲は広がっていた。この違いには天然の $\beta$ -コングリシニンの糖鎖が影響していると考えられた。一方、 $\beta$ 、 $\alpha$ のコア領域、 $\alpha'$ のコア領域はpH4から5以上では不溶性を示した。この結果から、pH 6.0以上の溶解性にエクステンション領域が影響を与えていることが示唆された。さらに、pH 4から5以上で不溶性である $\beta$ 、 $\alpha$ のコア領域、 $\alpha'$ のコア領域についてpH 7.6の条件でイオン強度に対する溶解性について調べた。

【0020】さらに、加熱会合性と同条件でダイズ油を用いてホモジナイズと超音波処理により調製したエマルションの粒度分布を測定することにより乳化性を比較した。横軸は粒子サイズ、縦軸は頻度を表している。これ

らの数値は粒子の平均サイズで、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\alpha$ のコア領域、 $\alpha'$ のコア領域、 $\beta$ の順により細かい粒子を形成した。特に $\alpha$ は乳化性が高いBSAに近い値が得られた。乳化性には、油滴界面上で変性しやすいフレキシブルな構造が必要であることから、構造安定性と乳化性が相関する可能性がある。そこで、各サブユニットの変性温度に対して、粒度分布より得られた平均粒子径をプロットした。

【0021】コア領域に関して比較すると $\alpha$ のコア領域、 $\alpha'$ のコア領域、 $\beta$ の順に細かい粒子を形成しており、変性温度の低い順に対応していた。さらに、エクステンションを持つ $\alpha$ 、 $\alpha'$ 間でも、変性温度の順に対応しており、変性温度とエマルションの粒子サイズが相関していた。また、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ はそれぞれのコア領域よりも細かい粒子を形成し、このことから、乳化性にエクステンション領域が大きく寄与していることが示された。以上の結果から機能特性は各サブユニットで互いに異なっており、それは糖鎖やエクステンション領域が寄与していること、そして、コア領域の構造安定性の違いを非常に反映していることが示された。

#### 【0022】実施例3

( $\alpha$ サブユニットを多量に含む蛋白の調製) $\alpha$ サブユニットを多量に含む蛋白画分を調製するため、以下のような遺伝子工学的手法を用いた。まず、大豆品種ワセズナリの登熟期種子から、cDNAライブラリーを調製した。次に、得られたcDNAライブラリーから $\alpha$ サブユニットに対するcDNAをクローニングした。そしてma

tureな部分をコードしている領域をPCRによって増幅し、発現ベクターpET21dのT7プロモーターの下流に挿入することで、 $\alpha$ サブユニットに対する発現プラスミドを構築した。このプラスミドを大腸菌BL21(DE3)で発現させ、 $\alpha$ 画分を高含量で含む蛋白溶液を調製した。得られた蛋白溶液から70%硫酸アンモニウム(硫酸)で蛋白画分を沈殿後、透析を行って硫酸を除き、凍結乾燥して目的とする試料を得た。本試料はSDS-ポリアクリルアミド電気泳動で調べた結果 $\alpha$ サブユニット以外の蛋白質のバンドは検出されなかった。

【0023】(基本性質)本試料の基本性質を調べた。比較の意味でTHANH & SHIBASAKIの方法で調製した $\beta$ コングリシニンをもちいた。その結果を(表1)に示した。 $\alpha$ サブユニットを約38%含む $\beta$ コングリシニンと $\alpha$ サブユニットだけからなる大豆蛋白質とを表1の割合で混合したものの溶解性、乳化性を調べた。又、乳化性はキンセラーの方法を用いて測定した。溶解性は下記のように測定した。設定のイオン強度、pHに調製した磷酸バッファーに対し、サンプルを終濃度1%となるように加え均一に攪拌した。ウォーターバス中において、37℃・30分放置。3000G・10分遠心分離

BIOLADの蛋白測定キットにて蛋白量を測定。

【0024】溶解性は遠心分離前(㉔の条件)の溶液と、沈殿除去後(㉕の条件)の溶液の蛋白量の比率を求め、 $\beta$ コングリシニンのPH7.0、イオン強度0.5での値を100として相対値で示した。

表1 ( $\beta$ コングリシニンと $\alpha$ サブユニット蛋白の混合割合と $\alpha$ サブユニットの含有割合(重量%))

No.	$\beta$ コングリシニン	$\alpha$ サブユニットタンパク	$\alpha$ サブユニットの割合
1	100	0	37.7
2	0	100	100
3	100	0	37.7
4	50	50	68.9
5	30	70	81.3
6	10	90	93.8
7	0	100	100

#### 【0025】

表2 ( $\beta$ コングリシニン- $\alpha$ サブユニットの構成比と溶解性・乳化性の関係)

表1のNo.	PH	イオン強度	溶解性	乳化性
1	7.0	0.5	100	100
2	7.0	0.5	100	250
3	5.0	0.3	30	25
4	5.0	0.3	50	75
5	5.0	0.3	70	120

6	5.0	0.3	90	150
7	5.0	0.3	90	150

このように、 $\alpha$ サブユニットは乳化性が高く、また酸性領域でも $\beta$ コングリシニンに比較して高い溶解性を持つことがわかった。

#### 【0026】実施例4

(応用) 本試料を用いて、(表2)のような配合で油脂を含む飲料を調製した。得られた溶液を各PHの0.2 M 燐酸緩衝液に滴下しその状態を観察した。その結果 $\beta$ コングリシニンを用いたものに比較して、低PH領域での安定性が良いことがわかった。表3

蛋白質	5%
パーム油	7%
砂糖	3%
水	85%

(調製方法) 原料を60℃でプロペラ攪拌機で混合後ホモミキサー(特殊機化製)

7000rpm\*10分間乳化

#### 【0027】

組成 配合率

表4 (乳化蛋白飲料の溶解性と凝固性)

PH	6.0	5.0	4.5	4.0
$\alpha$ サブユニット区	○	○	△	×
$\beta$ コングリシニン区	○	×	×	×

但し、○；溶解、△；一部凝集、×；凝集を表す。

以上のように $\alpha$ サブユニットを高含量で含む蛋白溶液は、従来の分離大豆蛋白質に比較して、低PH領域での溶解性、乳化性にすぐれ、食品の機能剤としての効果が期待できる。

#### 【0028】

【発明の効果】以上説明したように、本発明により $\beta$ -コングリシニンを構成するサブユニット中の $\alpha$ サブユニット含量が高く、中性及び酸性下での溶解性、乳化性が大きく改善された大豆蛋白質を得ることが可能になったものである。該大豆蛋白質はゲル化性にも優れるものである。又、中性及び酸性下で乳化性の優れた乳化剤が可

能になったものである。

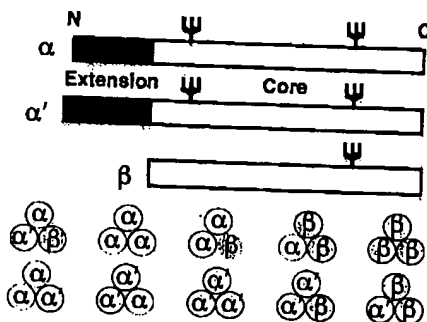
#### 【図面の簡単な説明】

「

【図1】は、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ の各サブユニットを模式的に示して図面であり、下欄に各サブユニットから掲載される三量体を示した図面である。「

【図2】は、大腸菌発現ベクターpET21dを用いて、 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 、 $\beta$ 、 $\alpha$ のコア及び $\alpha'$ のコアに対する発現プラスミドを構築し、大腸菌BL21(DE3)中で発現させた大腸菌全菌体蛋白をSDS-PAGEにかけた結果を示す図面である。

【図1】



【図2】

